

506771

10/506771

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

REC'D PCT 07 SEP 2004

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局(43) 国際公開日  
2003年10月16日 (16.10.2003)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 03/085001 A1(51) 国際特許分類: C08B 15/00, C07B  
37/00, 37/02, 37/08, A61K 47/36, 7/00

(21) 国際出願番号: PCT/JP03/04430

(22) 国際出願日: 2003年4月8日 (08.04.2003)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:  
特願2002-106356 2002年4月9日 (09.04.2002) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社資生堂 (SHISEIDO COMPANY, LTD.) [JP/JP]; 〒104-8010 東京都中央区銀座7-5-5 Tokyo (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 宮沢 和之 (MIYAZAWA, Kazuyuki) [JP/JP]; 〒224-8558 神奈川県横浜市都筑区早渕2-2-1 株式会社資生堂リサーチセンター (新横浜) 内 Kanagawa (JP). 梁木 利男

(YANAKI, Toshio) [JP/JP]; 〒224-8558 神奈川県横浜市都筑区早渕2-2-1 株式会社資生堂リサーチセンター (新横浜) 内 Kanagawa (JP). ウィニック フランソワズ (WINNIK, Francoise M.) [CA/CA]; ケベック州 ウェストモント #2 アヴェニュー・オリヴィエ 356 Quebec (CA).

(74) 代理人: 高野 俊彦, 外 (TAKANO, Toshihiko et al.); 〒162-0834 東京都新宿区北町32-802 高野・志波国際特許事務所内 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): KR, US.

(84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR).

添付公開書類:  
— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: POLYSACCHARIDE CONTAINING PHOSPHORYLCHOLINE GROUP AND PROCESS FOR PRODUCING THE SAME

(54) 発明の名称: ホスホリルコリン基含有多糖類及びその製造方法

(57) Abstract: A process for producing a phosphorylcholine group-containing polysaccharide, characterized by causing an aldehyde-containing compound obtained by the oxidative cleavage reaction of glycerophosphorylcholine to add to an aminated polysaccharide; and a novel phosphorylcholine group-containing polysaccharide obtained by the process. The novel phosphorylcholine group-containing polysaccharide is excellent in biocompatibility and moisture retention and is useful as a polymeric material for medical use. This polysaccharide can be easily produced by the process. The polysaccharide is utilized in applications such as artificial organs, biomembranes, coating materials for medical supply, drug delivery, and ingredients to be incorporated in cosmetic preparations.

(57) 要約: 本発明は、グリセロホスホリルコリンの酸化的開裂反応により得られたアルデヒド体含有化合物を、アミノ基を含有する多糖類に付加することを特徴とするホスホリルコリン基含有多糖類の製造方法、及び本製造方法により得られるホスホリルコリン基を有する新規な多糖類である。本発明の目的は、生体適合性、保湿性に優れ、医用高分子材料として有用な、ホスホリルコリン基を有する新規な多糖類及びその簡便な製造方法を提供することである。本発明の多糖類は、例えば、人口臓器、生体膜、医療用具のコーティング剤、ドラッグデリバリー、化粧品配合成分として利用される。

WO 03/085001 A1

## 明細書

## ホスホリルコリン基含有多糖類及びその製造方法

## 5 技術分野

本発明はホスホリルコリン基を有する多糖類及び製造方法に関する。

本発明のホスホリルコリン基含有多糖類は、生体適合性、保湿性に優れ、医用高分子材料として有用である。具体的には、例えば人口臓器、生体膜、医療用具のコーティング剤、ドラッグデリバリー、化粧品配合成分として利用される。

## 背景技術

ホスホリルコリン基を有する高分子は生体適合性材料として開発されている。ホスホリルコリン基を有する重合体の合成法としては、主に水酸基を有するアクリル系モノマーと2-クロロ-1, 3, 2-ジオキサホスホラン-2-オキシドを反応させ、更にトリメチルアミンにより4級アンモニウムとすることによりホスホリルコリン構造を有するモノマーを合成し、これを重合する方法が採られてきた。

しかしながら、上記の方法ではモノマーの溶解性の問題から疎水性基を導入する場合、重合溶媒としてメタノール、エタノール、クロロホルム等、連鎖移動触媒として知られる有機溶媒を用いる必要があるため、高分子量のポリマーの製造が難しい。また、モノマーの合成反応を厳密な無水条件下にて行う必要があり、手法が煩雑である。

また、ホスホリルコリンを側鎖に有する単量体を重合する従来の製造方法ではホスホリルコリン基の立体障害から、重合収率が低下或いは希望する重合体を得られないという問題がある。

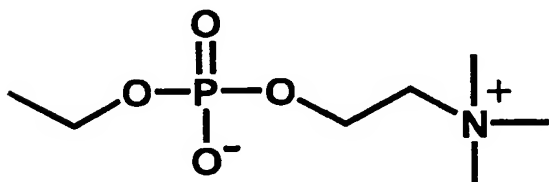
## 2

本発明者らは、上記の観点から、ホスホリルコリン基含有重合体の製造方法について鋭意研究した結果、ホスホリルコリン基を含有する化合物と、この化合物と反応する官能基を有する多糖類を反応させると、重合体の側鎖における高分子反応により簡便かつ高い汎用性をもってホスホリルコリン構造を有する多糖類が得られることを見出し、本発明を完成するに至った。

## 発明の開示

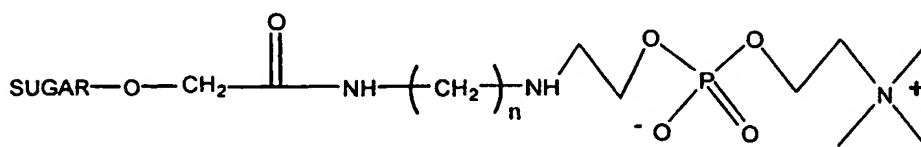
すなわち、本発明は、下記一般式（１）で示されるホスホリルコリン基を有する多糖類を提供するものである。

10 (1)



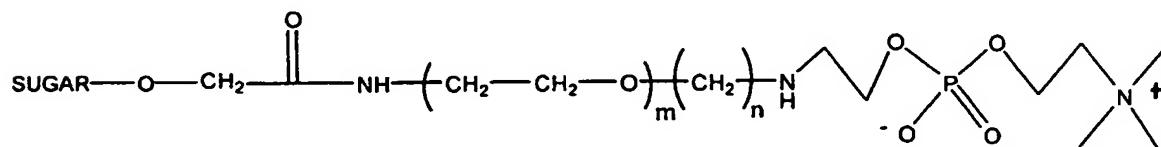
また、本発明は、下記一般式（２）～（１０）で示される、ホスホリルコリン基を有する多糖類を提供するものである。

(2)



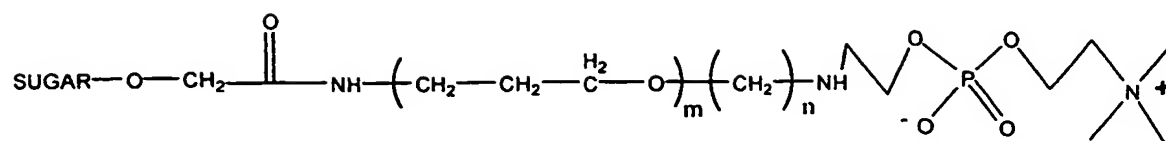
15

(3)

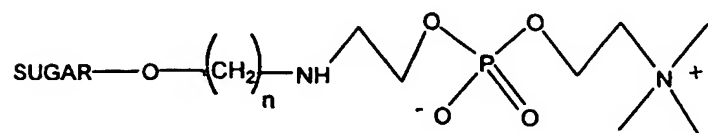


3

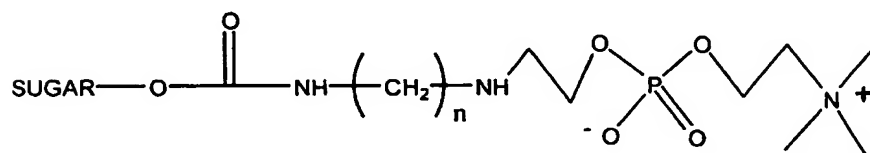
(4)



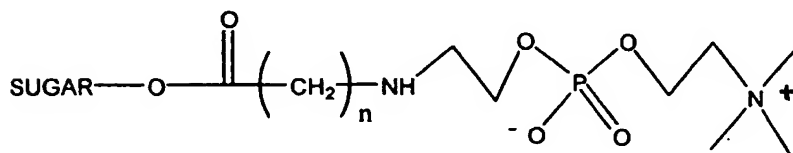
(5)



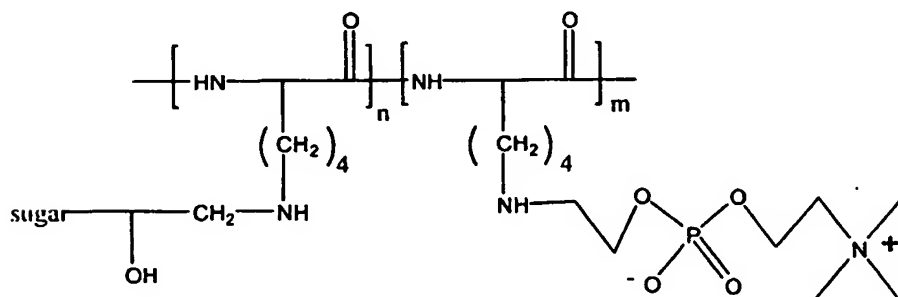
5 (6)



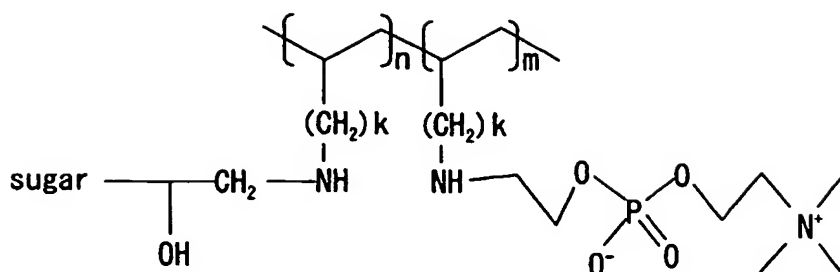
(7)



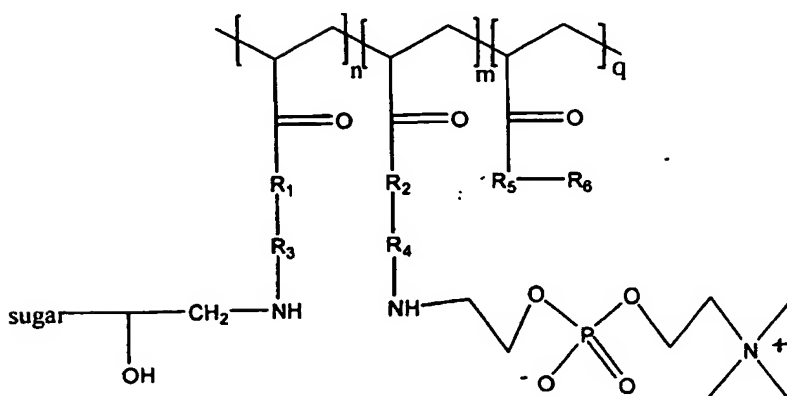
(8)



(9)



(10)



5 但し、一般式(2)～(7)において、 $n$ は1～22の整数、 $m$ は1～20の整数、SUGARは多糖類を表わす。

一般式(8)～(10)において、 $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_5$ は、O、NH又は3級アミンを表わす。

10  $R_3$ 、 $R_4$ は、炭素原子数1～22の直鎖または分岐アルキレン、又は、繰り返し単位1～20のエチレンオキシドを表わす。

$R_6$ は、芳香族を含む炭化水素、又は、炭素原子数1～22のパーフルオロアルキレン基を表わす。

$k$ は0～6の整数、 $n$ 、 $m$ 、 $q$ は正の整数、sugarは多糖類を表わす。

15 さらに、本発明は、グリセロホスホリルコリンの酸化的開裂反応により得られたアルデヒド体含有化合物を、アミノ基を含有する多糖類に付加することを特徴とするホスホリルコリン基を有する多糖類の製造方法を提供するも

のである。

#### 図面の簡単な説明

図1は、ホスホリルコリン基を含有する一官能のアルデヒド体を調製する

5 スキームである。

図2は、一般式(2)の多糖類の製造スキームである。

図3は、合成例1の構造式及びNMRスペクトルである。

図4は、合成例2の構造式である。

図5は、合成例3の構造式及びNMRスペクトルである。

10 図6は、合成例4の構造式及びNMRスペクトルである。

図7は、合成例5の構造式である。

図8は、合成例6の構造式である。

図9は、合成例7の構造式である。

図10は、合成例8の構造式及びNMRスペクトルである。

15 図11は、合成例9の構造式である。

図12は、合成例10の構造式及びNMRスペクトルである。

図13は、合成例11の構造式である。

図14は、合成例12の構造式である。

図15は、合成例13の構造式である。

20 図16は、合成例14の構造式である。

図17は、合成例15の構造式である。

図18は、合成例16の構造式である。

図19は、合成例17の構造式である。

図20は、合成例18の構造式である。

25 図21は、合成例19の構造式である。

図22は、合成例20の構造式である。

図 2 3 は、合成例 2 1 の構造式である。

図 2 4 は、溶血試験結果を表わすグラフである。

発明を実施するための最良の形態

5 以下、本発明について詳述する。

本発明のホスホリルコリン基を有する多糖類の製造方法は以下の通りである。

①：アミノ基を有する多糖類に対し、グリセロホスホリルコリンの酸化的解裂反応により得られたアルデヒド体あるいはハイドレート体との還元的アミノ化反応により、ホスホリルコリン基が付加した多糖類を得る。

従来、ホスホリルコリン基を主鎖に付加した多糖類は報告されていない。多糖類に対しては、グラフト重合により主鎖から離れた側鎖に間接的に導入する方法が知られている（Journal of Biomedical Materials Research, Vol. 29, 181-188 (1995)）のみであるが、製造法が煩雑であるという欠点がある。

①の反応による本発明の製造方法は導入収率が高く、導入率のコントロールも容易であるという大きな利点がある。

例えば、目的に応じてホスホリルコリンの導入率を制御し、ポリマーの親水性を変えたり、必要とされる生体適合性に合わせるような設計が可能である。また、ホスホリルコリン基に影響されることなく、疎水基等により糖鎖に必要な機能を持たせた上で、その後に任意の量のホスホリルコリン基を付加させ、目的とする機能性高分子材料を容易に得ることが出来る。またポリマーの形態として、多糖類の主鎖にホスホリルコリンを導入したもの及び多糖類に導入したポリマーの主鎖にホスホリルコリンを導入したものを合成可能であり、用途に応じて使い分けることができる。

本発明の①の製造方法において、グリセロホスホリルコリンの酸化的解裂

反応により得られるアルデヒド体を含む化合物は、公知のグリセロホスホリルコリン基を公知の方法により酸化的解裂を行わせるもので、極めて簡単なステップである。

この反応は、1, 2-ジオールを過ヨウ素酸、或いは過ヨウ素酸塩を用いて酸化することにより結合を開裂させ、2つのアルデヒド体を得るものであり、本法の場合、ホスホリルコリンアルデヒド体とホルムアルデヒドを生成する。反応は通常水中または水を含む有機溶媒中で行われる。反応温度は0度から室温である。アルデヒド体は水中で平衡反応を経てハイドレートとなることもあるが、続くアミンとの反応には影響しない。

10 アミノ基を有する多糖類は特に限定されない。多糖類の側鎖に、グリセロホスホリルコリンの酸化的解裂反応により得られるアルデヒド体が反応できるアミノ基があればよい。

公知の多糖類を使用できる。公知の多糖類に公知の方法によりアミノ基を導入して、目的とする用途に合った多糖類を設計できる。

15 多糖類としては、例えば、デキストラン、セルロース、ヒアルロン酸、プルラン、グルコマンナン、コンドロイチン硫酸、アガロース、ペクチン、キチン、キトサン、アラビアゴム、カラギーナン、ジュラン、グアーガム、アルギン酸、キサントガム、アミロース、レオザンなどが挙げられる。

多糖類がアミノ基を有するためには、例えば、カルボキシメチル化反応によりカルボン酸を導入し、続くジアミンとのアミド化反応を行う。またキトサンのようにアミノ基を有する多糖はそのままホスホリルコリン導入反応に供することが可能である。アミノ基の含有量により、最終目的物のホスホリルコリン基含有量を設計できる。

また、還元末端を有する通常の子糖類と、ポリリジン或いはポリエチレンジイミンといったアミノ基を有するポリマーを還元的アミノ化によりカップリングさせ、アミノ基含有多糖類を得ることもできる。



グリセロホスホリルコリンの酸化的解裂反応により得られるアルデヒド体(若しくはハイドレート体重合体)を重合体のアミノ基に結合させる還元的アミノ化反応は、両者を溶媒中にて攪拌することにより容易に行うことが出来る。

- 5 この反応は両者を水或いはアルコール中に溶解し(第三成分の有機溶媒を混合しても良い)、イミンを形成させた後、これを還元剤により還元して2級アミンを得るものである。

還元剤としてはシアノホウ素酸ナトリウム等マイルドな還元剤が好ましいが、ホスホリルコリンが安定な限り、他の還元剤を用いることも可能である。

- 10 反応は通常0度から室温で行われるが、場合により加熱することもある。

上記の製造方法により、親水部のホスホリルコリン基を任意の量で含有する多糖類が簡単に得られる。

- 生体適合機能を有するものとして、さらにホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトール、ジホスファチジ  
15 ルグリセロールといった生体膜構成成分の構造を含有する重合体も設計出来る。

- 多糖類の親水部として、カルボン酸基、水酸基、1級～3級アミノ基、スルホン酸基、リン酸基、ポリオキシエチレン基、アンモニウム基、アミド、カルボキシベタイン、糖類等を含有してもよく、これらの種類及び含有量で、  
20 その機能を設計できる。

- また、多糖類の疎水部として、炭素原子数1～22の直鎖状または分岐アルキル、コレステロール等の環状アルキル、オレイル等不飽和結合を含むアルキル基、ベンゼン環、ナフタレン環、ピレンをはじめとする炭化水素系芳香族、ピリジン環、イミダゾール、チアゾール、インドール等のヘテロ系芳香族、パーフルオロアルキル、ポリアルキルシロキサン等の疎水基を用途に  
25 応じて導入し、設計できる。

疎水基の結合形態は、エステル、エーテル、アミド、ウレタン、尿素結合等により直接主鎖と結合されていても良いし、スペーサーを介して主鎖と結合されていても良い。スペーサーの種類としては、親水性のポリエチレンオキサイド、疎水性のポリプロピレンオキサイド、直鎖状アルキル（炭素原子数 2 ～ 22）等が挙げられる。

上記の製造方法により、一般式（1）～（10）で表わされる本発明の多糖類を容易に製造することが出来る。

一般式（2）～（10）で表わされる多糖類は多糖類とホスホリルコリンが2級アミンを介して結合していることを特徴としている。ホスホリルコリンの結合部位は高分子主鎖に2級アミンを介して直接結合するものである。

本発明の製造方法により、多糖類とホスホリルコリンとを2級アミンを介して結合させることも可能であるし、糖鎖末端にブロック的にアクリル系ポリマーなどを結合させて結合させたポリマー中にて2級アミンを介してホスホリルコリンを結合させることも可能である。

本発明のホスホリルコリン基を有する多糖類は親水性及び保湿性に優れた多糖類高分子原料である。

一般式（2）～（10）において、多糖類を表わす「s u g a r」は、炭素原子数 1 ～ 22 の直鎖又は分岐アルキル基、パーフルオロアルキル基、芳香族基、ヘテロ芳香族基を含んでも良い。

一般式（8）～（10）の多糖類は、重合体の主鎖にホスホリルコリン基と多糖類が付加した重合体である。

これは、アミノ基を介して、多糖類とホスホリルコリン基が付加した重合体であり、m、n、qで括ったカッコ部分の二種或いは三種の繰り返し単位を含有する重合体を意味し、通常、多糖類とホスホリルコリン基が付加した繰り返し単位はランダムに重合している。m、n、qは正の整数により、多糖類とホスホリルコリン基がそれぞれ付加した繰り返し単位の重合体中の組

成を表わすことが出来る。

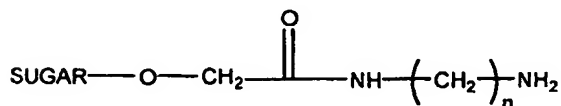
アミノ基を有する重合体に多糖類とホスホリルコリン基とを付加させる高分子反応により製造するため、重合体中には多糖類若しくはホスホリルコリン基が付加せずにアミノ基が残存している繰り返し単位があってもよい。

- 5 一般式(2)～(7)における多糖類は特に限定されるものではなく、水酸基を有し、反応溶媒に可溶であればいかなる多糖類も使用できる。

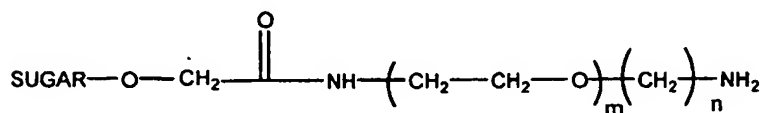
一般式(8)～(10)における多糖類は還元末端を有し、反応溶媒に可溶であればいかなる多糖類も使用できる。

- 10 一般式(2)～(10)のホスホリルコリン基を有する多糖類は、下記の一般式(11)～(19)で表わされるアミノ基を含有する多糖類から、本発明の製造方法により容易に製造できる。また、一般式以外にも元来アミノ基を有する糖(キトサン等)も使用できる。

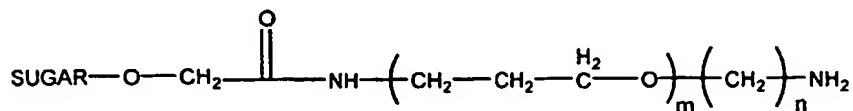
(11)



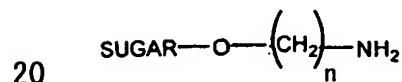
15 (12)



(13)

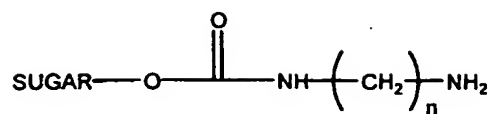


(14)

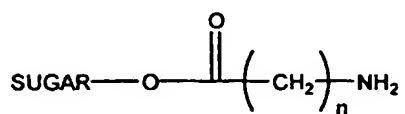


1 1

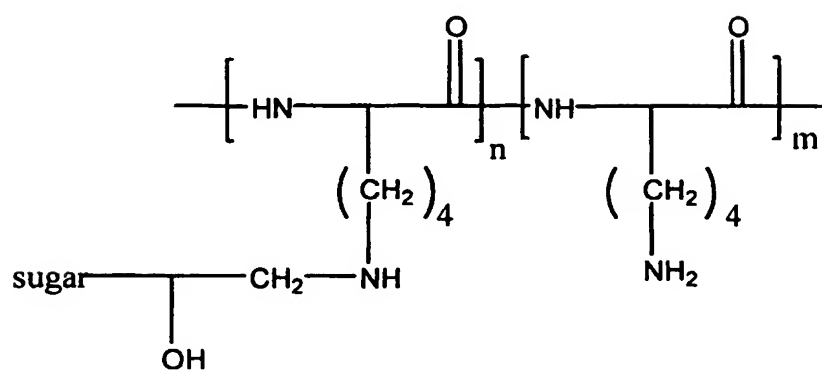
( 1 5 )



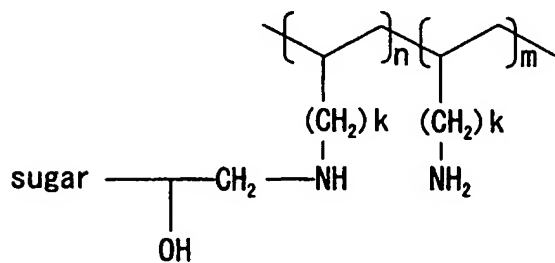
( 1 6 )



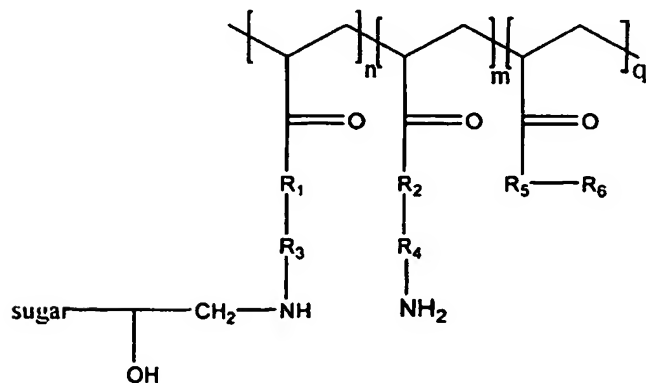
5 ( 1 7 )



( 1 8 )



( 1 9 )



## 12

但し、一般式(11)～(16)において、 $n$ は1～22の整数、 $m$ は1～20の整数、SUGARは多糖類を表わす。

一般式(17)～(19)において、 $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_5$ は、O、NH又は3級アミンを表わす。

5  $R_3$ 、 $R_4$ は、炭素原子数1～22の直鎖または分岐アルキレン、又は、繰り返し単位1～20のエチレンオキシドを表わす。

$R_6$ は、芳香族を含む炭化水素、又は、炭素原子数1～22のパーフルオロアルキレン基を表わす。

$k$ は0～6の整数、 $n$ 、 $m$ 、 $q$ は正の整数、sugarは多糖類を表わす。

10 図1に、ホスホリルコリン基含有する一官能のアルデヒド体を調製するスキーム、図2に一般式(2)の多糖類の製造スキームを示す。

本発明の製造方法により、一官能のホスホリルコリンアルデヒド体から目的の本発明のホスホリルコリン基含有多糖類が容易に得られることを示している。

15 一般式(3)～(11)の多糖類も全く同様にして得られる。

### 実施例

以下に具体的な合成例を挙げる。本発明は下記の合成例に限定されない。

本発明の多糖類中の組成はNMRにより求めることが出来る。

20

#### 合成例1 ホスホリルコリン基を含有するアルデヒド体

L- $\alpha$ -グリセロホスホリルコリン(450mg)を蒸留水15mlに溶解し、氷水浴中で冷却する。過ヨウ素酸ナトリウム(750mg)を添加し、2時間攪拌する。更にエチレングリコール(150mg)を添加して1晩攪拌する。反応液を減圧濃縮、減圧乾燥し、メタノールにより目的物を抽出する。

25

## 13

構造式及びNMRスペクトルを図3に示す。

合成例2 カルボキシメチルデキストランの合成

- デキストラン(5g)、クロロ酢酸(10.28g)を6N水酸化ナトリウム溶液に溶解し、60℃で1時間過熱攪拌する。室温に冷却した後メタノール中に再沈殿し、目的物を得る。(収量6.2g)

構造式を図4に示す。

合成例3 アミノデキストランの合成

- 10 合成例2のカルボキシデキストラン1gとエチレンジアミン(10ml)を蒸留水10mlに溶解し、pH5に調整する。1{3-(ジメチルアミノ)プロピル}3-エチルカルボジイミド塩酸塩1.5gを徐添加する。室温で1晩攪拌した後、反応液を水中で透析し、凍結乾燥により目的物1.25gを得る。
- 15 構造式及びNMRスペクトルを図5に示す。

合成例4 アミノセルロースの合成

- カルボキシメチルセルロース1gとエチレンジアミン(10ml)を蒸留水10mlに溶解し、pH5に調整する。1{3-(ジメチルアミノ)プロピル}3-エチルカルボジイミド塩酸塩1.5gを徐添加する。室温で1晩攪拌した後、反応液を水中で透析し、凍結乾燥により目的物1.05gを得る。

構造式及びNMRスペクトルを図6に示す。

25 合成例5 アミノヒアルロン酸の合成

ヒアルロン酸1gとエチレンジアミン(10ml)を蒸留水10mlに溶

解し、p h 5に調整する。1 {3-(ジメチルアミノ)プロピル} 3-エチルカルボジイミド塩酸塩 1.5 gを徐添加する。室温で1晩攪拌した後、反応液を水中で透析し、凍結乾燥により目的物 1.2 gを得る。

構造式を図7に示す。

5

#### 合成例6 カルボキシメチルプルランの合成

プルラン (5 g)、クロロ酢酸 (10.28 g) を6 N水酸化ナトリウム溶液に溶解し、60℃で1時間過熱攪拌する。室温に冷却した後メタノール中に再沈殿し、目的物を得る。(収量 5.1 g)

10 構造式を図8に示す。

#### 合成例7 アミノプルランの合成

合成例6のカルボキシプルラン 1 gとエチレンジアミン (10 ml) を蒸留水 10 mlに溶解し、p h 5に調整する。1 {3-(ジメチルアミノ)プロピル} 3-エチルカルボジイミド塩酸塩 1.5 gを徐添加する。室温で1晩攪拌した後、反応液を水中で透析し、凍結乾燥により目的物 1.15 gを得る。

構造式を図9に示す。

#### 20 合成例8 ホスホリルコリンデキストランの合成

合成例1のホスホリルコリンアルデヒド 1 gを合成例3のアミノデキストリン (1 g) 水溶液 (15 ml) に添加し、5時間室温で攪拌する。水素化シアノホウ素酸ナトリウム 500 mgを添加し、一晩攪拌する。透析、凍結乾燥により精製し、目的物 1.1 gを得る。

25 構造式及びNMRスペクトルを図10に示す。

## 15

## 合成例 9 ホスホリルコリンセルロースの合成

合成例 1 のホスホリルコリンアルデヒド 1 g を合成例 4 のアミノセルロース (1 g) 水溶液 (15 ml) に添加し、5 時間室温で攪拌する。水素化シアノホウ素酸ナトリウム 500 mg を添加し、一晩攪拌する。透析、凍結乾燥により精製し、目的物 1.05 g を得る。

構造式を図 11 に示す。

## 合成例 10 ホスホリルコリンヒアルロン酸の合成

合成例 1 のホスホリルコリンアルデヒド 1 g を合成例 6 のアミノヒアルロン酸 (1 g) 水溶液 (15 ml) に添加し、5 時間室温で攪拌する。水素化シアノホウ素酸ナトリウム 500 mg を添加し、一晩攪拌する。透析、凍結乾燥により精製し、目的物 1.2 g を得る。

構造式及び NMR スペクトルを図 12 に示す。

## 15 合成例 11 ホスホリルコリンプルランの合成

合成例 1 のホスホリルコリンアルデヒド 1 g を合成例 8 のアミノプルラン (1 g) 水溶液 (15 ml) に添加し、5 時間室温で攪拌する。水素化シアノホウ素酸ナトリウム 500 mg を添加し、一晩攪拌する。透析、凍結乾燥により精製し、目的物 0.99 g を得る。

20 構造式を図 13 に示す。

## 合成例 12 疎水化ホスホリルコリンデキストランの合成

合成例 3 のアミノデキストリン (1 g) 水溶液 (15 ml) にラウリン酸 (0.02 g) の DMF (15 ml) 溶液を添加し、1 {3- (ジメチルアミノ) プロピル} 3-エチルカルボジイミド塩酸塩 1.5 g を徐添加する。室温で 1 晩攪拌した後、反応液を水中で透析し、この水溶液に合成例 1 のホ



## 16

スホリルコリンアルデヒド 1 g を添加、5 時間室温で攪拌する。水素化シアノホウ素酸ナトリウム 500 mg を添加し、一晩攪拌する。透析、凍結乾燥により精製し、目的物 1.1 g を得る。

構造式を図 14 に示す。

5

#### 合成例 13 疎水化ホスホリルコリンセルロースの合成

合成例 4 のアミノデキストリン (1 g) 水溶液 (15 ml) にステアリン酸 (0.01 g) の DMF (15 ml) 溶液を添加し、1 {3- (ジメチルアミノ) プロピル} 3-エチルカルボジイミド塩酸塩 1.5 g を徐添加する。

- 10 室温で 1 晩攪拌した後、反応液を水中で透析し、この水溶液に合成例 1 のホスホリルコリンアルデヒド 1 g を添加、5 時間室温で攪拌する。水素化シアノホウ素酸ナトリウム 500 mg を添加し、一晩攪拌する。透析、凍結乾燥により精製し、目的物 0.89 g を得る。

構造式を図 15 に示す。

15

#### 合成例 14 疎水化ホスホリルコリンヒアルロン酸の合成

合成例 5 のアミノヒアルロン酸 (1 g) 水溶液 (15 ml) にパーフルオロオクタン酸 (0.2 g) の DMF (15 ml) 溶液を添加し、1 {3- (ジメチルアミノ) プロピル} 3-エチルカルボジイミド塩酸塩 1.5 g を徐

- 20 添加する。室温で 1 晩攪拌した後、反応液を水中で透析し、この水溶液に合成例 1 のホスホリルコリンアルデヒド 1 g を添加、5 時間室温で攪拌する。水素化シアノホウ素酸ナトリウム 500 mg を添加し、一晩攪拌する。透析、凍結乾燥により精製し、目的物 1.2 g を得る。

構造式を図 16 に示す。

25

#### 合成例 15 疎水化ホスホリルコリンプルランの合成

## 17

合成例7のアミノプルラン（1 g）水溶液（15 ml）にラウリン酸（0.02 g）のDMF（15 ml）溶液を添加し、1 {3-（ジメチルアミノ）プロピル} 3-エチルカルボジイミド塩酸塩1.5 gを徐添加する。室温で1晩攪拌した後、反応液を水中で透析し、この水溶液に合成例1のホスホリルコリンアルデヒド1 gを添加、5時間室温で攪拌する。水素化シアノホウ素酸ナトリウム500 mgを添加し、一晩攪拌する。透析、凍結乾燥により精製し、目的物1.1 gを得る。

構造式を図17に示す。

## 10 合成例16 ヒアルロン酸-ポリリジンの合成

ヒアルロン酸（1 g）とポリリジン（1 g）を蒸留水15 mlに溶解し、室温で5時間攪拌する。水素化シアノホウ素酸ナトリウム500 mgを添加し、一晩攪拌する。透析、凍結乾燥により精製し、目的物1.85 gを得る。

構造式を図18に示す。

15

## 合成例17 デキストラン-ポリアリルアミンの合成

デキストラン（1 g）とポリアリルアミン（1 g）を蒸留水15 mlに溶解し、室温で5時間攪拌する。水素化シアノホウ素酸ナトリウム500 mgを添加し、一晩攪拌する。透析、凍結乾燥により精製し、目的物1.6 gを得る。

20

構造式を図19に示す。

## 合成例18 ヒドロキシエチルセルロース-ポリN-イソプロピルアクリルアミド-ポリN-（3-アミノプロピル）メタクリルアミドの合成

25 ヒドロキシエチルセルロース（1 g）とヒドロキシエチルセルロース-ポリN-イソプロピルアクリルアミド-ポリN-（3-アミノプロピル）メタ

クリルアミド 1 : 1 コポリマー (1 g) を蒸留水 15 ml に溶解し、室温で5時間攪拌する。水素化シアノホウ素酸ナトリウム 500 mg を添加し、一晩攪拌する。透析、凍結乾燥により精製し、目的物 1.5 g を得る。

構造式を図 20 に示す。

5

#### 合成例 19 ヒアルロン酸-ホスホリルコリンポリリジンの合成

合成例 1 のホスホリルコリンアルデヒド 1 g を合成例 17 のヒアルロン酸-ポリリジン (1 g) 水溶液 (15 ml) に添加し、5 時間室温で攪拌する。水素化シアノホウ素酸ナトリウム 500 mg を添加し、一晩攪拌する。透析、

10 凍結乾燥により精製し、目的物 1.0 g を得る。

構造式を図 21 に示す。

#### 合成例 20 デキストラン-ホスホリルコリンポリアリルアミンの合成

合成例 1 のホスホリルコリンアルデヒド 1 g を合成例 18 のデキストラン-ポリアリルアミン (1 g) 水溶液 (15 ml) に添加し、5 時間室温で攪拌する。水素化シアノホウ素酸ナトリウム 500 mg を添加し、一晩攪拌する。透析、凍結乾燥により精製し、目的物 1.2 g を得る。

構造式を図 22 に示す。

#### 20 合成例 21 ヒドロキシエチルセルロース-ホスホリルコリンポリN-イソプロピルアクリルアミド-ポリN-(3-アミノプロピル)メタクリルアミドの合成

合成例 1 のホスホリルコリンアルデヒド 1 g を合成例 19 のヒドロキシエチルセルロース-ポリN-イソプロピルアクリルアミド-ポリN-(3-ア  
25 ミノプロピル)メタクリルアミド (1 g) 水溶液 (15 ml) に添加し、5 時間室温で攪拌する。水素化シアノホウ素酸ナトリウム 500 mg を添加し、

一晚攪拌する。透析、凍結乾燥により精製し、目的物 0.98 g を得る。

構造式を図 23 に示す。

次に、上記で合成した本発明の多糖類（合成例 8～15）を用いて、下記

5 手順にて、人の血液の溶血試験を行った。

「溶血試験」

EDTA 5.5 mg を含む K3 溶液に人血液を入れ、4℃で5分間 200  
G にて遠心分離する。得られた血液細胞をリン酸バッファー（PBS）で3  
回洗浄し、ポリマーの PBS 溶液と混合する。37℃にて20分間インキュ  
10 ベートした後、4℃で5分間 5300 G にて遠心分離する。上澄みの UV 吸  
収（541 nm）より溶血の度合い（%）を評価する。

溶血の度合い（%）下記の式にて求まる値（%）である。

溶血の度合い（%）＝ {（ポリマー添加した血液の上澄み UV 吸収）－（ポ  
リマー未添加上澄みの UV 吸収）} / {（完全に溶血した血液上澄み UV 吸  
15 収）－（ポリマー未添加上澄みの UV 吸収）} x 100

溶血試験結果の溶血の度合い（%）を「表 1」及び図 24 に示す。図 24  
のグラフにおいて合成例 8～15 で製造したホスホリン基を導入したポリマ  
ーの溶血の度合い（%）はいずれも横軸と重なる程ほぼ 0% であり、溶血反  
20 応を示していない。したがって、本発明によりホスホリン基を導入した多糖  
類（ポリマー）はいずれも極めて高い血液適合性を有することが分かる。

表 1

「溶血試験結果」

ポリマー 濃度 (g/L)	合成例 8	合成例 9	合成例 10	合成例 11	合成例 12	合成例 13	合成例 14	合成例 15	アクリ ル酸
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.1	0.01	0	0.01	0.01	0	0	0.02	0	10
0.25	0.02	0	0.01	0.01	0	0	0.03	0	15
0.5	0.03	0	0.05	0.01	0	0	0.035	0	35
1	0.02	0	0.1	0.03	0	0	0.04	0.1	50
2.5	0.02	0.05	0.1	0.03	0	0	0.04	0.1	100
5	0.025	0.1	0.1	0.04	0.11	0.16	0.05	0.15	100
10	0.05	0.1	0.1	0.05	0.4	0.11	0.07	0.2	100

## 5 産業上の利用可能性

本発明のホスホリルコリン基含有多糖類は、生体適合性及び保湿性が高く、有用な高分子材料であり、人工臓器、生体膜、医療用具のコーティング剤、ドラッグデリバリー、化粧品配合成分等の様々な応用分野がある。

本発明の製造方法は、生体適合性高分子材料などとして具体的用途に最適なホスホリルコリン基含有重合体を自由に設計できるという大きな利点がある。

例えば、最初に、ホスホリルコリン基に影響されることなく、多糖類に疎水基を導入する等の設計を自由により用途に応じた最適な材料を得る。その後に任意の量のホスホリルコリン基を付加させ、目的とする機能

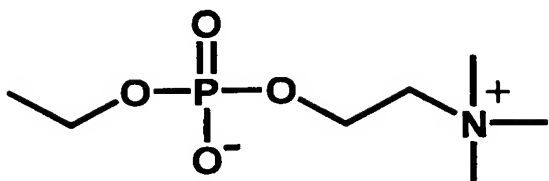
性高分子材料を容易に得ることが出来る。

## 21

## 請求の範囲

1. 下記一般式（1）で示されるホスホリルコリン基を有する多糖類。

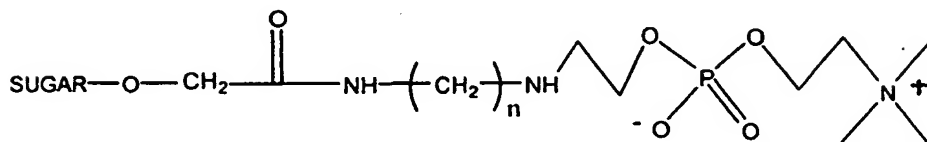
（1）



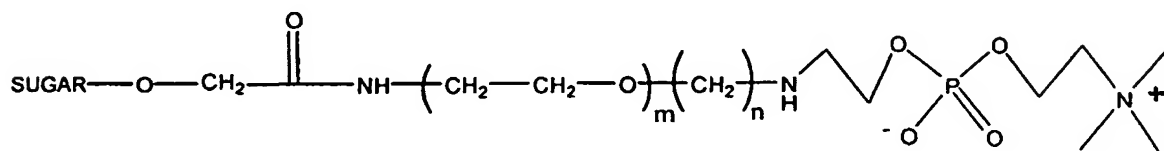
5

2. 下記一般式（2）～（10）で示される、ホスホリルコリン基を有する多糖類。

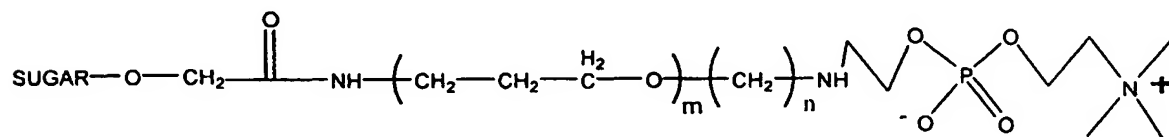
（2）



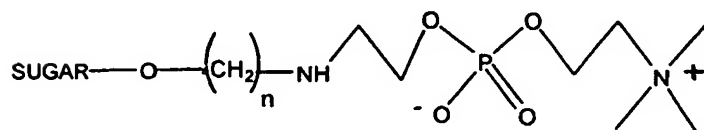
10 （3）



（4）



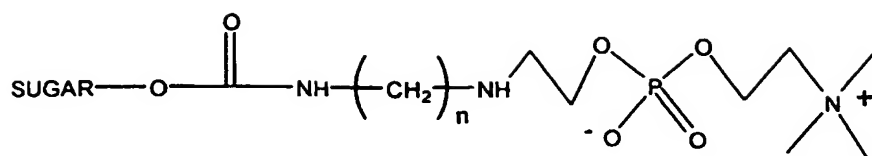
（5）



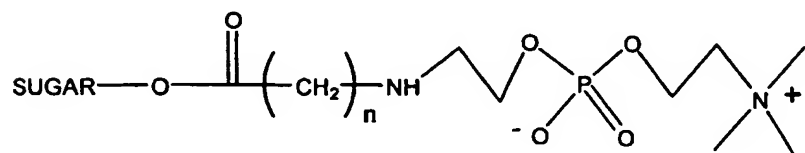
15

22

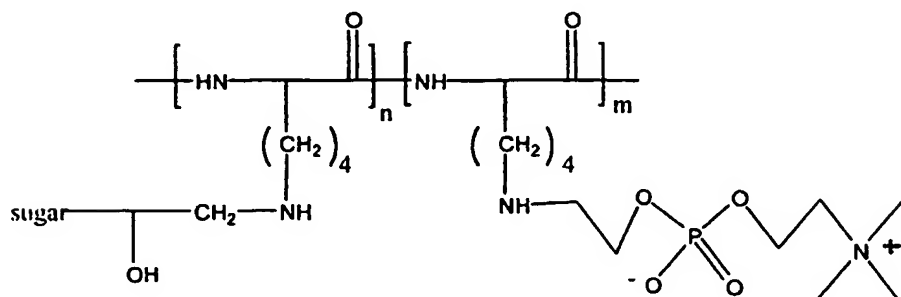
(6)



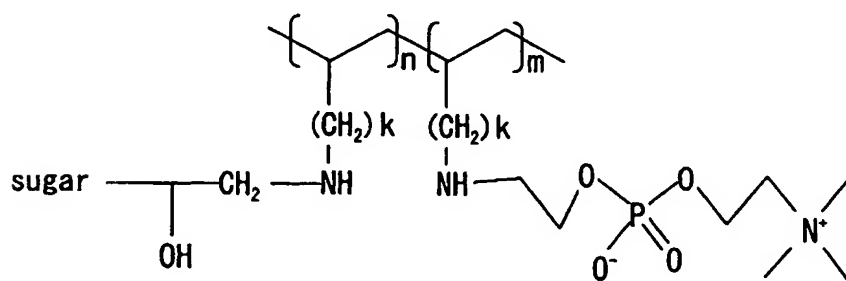
(7)



5 (8)

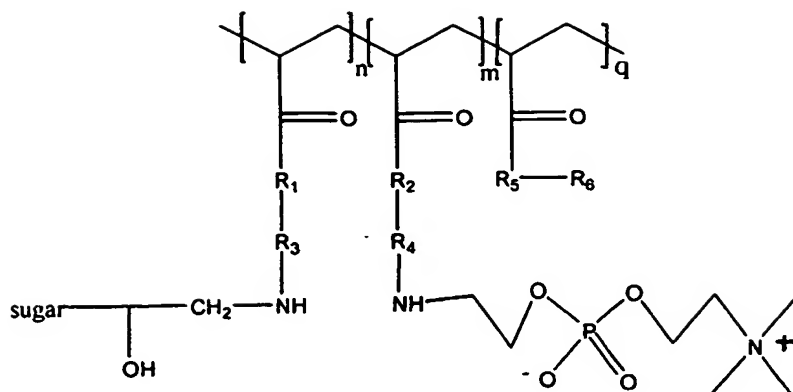


(9)



23

(10)



但し、一般式(2)～(7)において、 $n$ は1～22の整数、 $m$ は1～20の整数、SUGARは多糖類を表わす。

5 一般式(8)～(10)において、 $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_5$ は、O、NH又は3級アミンを表わす。

$R_3$ 、 $R_4$ は、炭素原子数1～22の直鎖または分岐アルキレン、又は、繰り返し単位1～20のエチレンオキシドを表わす。

10  $R_6$ は、芳香族を含む炭化水素、又は、炭素原子数1～22のパーフルオロアルキレン基を表わす。

$k$ は0～6の整数、 $n$ 、 $m$ 、 $q$ は正の整数、sugarは多糖類を表わす。

3. グリセロホスホリルコリンの酸化的開裂反応により得られたアルデヒド体含有化合物を、アミノ基を含有する多糖類に付加することを特徴とするホスホリルコリン基を有する多糖類の製造方法。



1 / 15

図 1

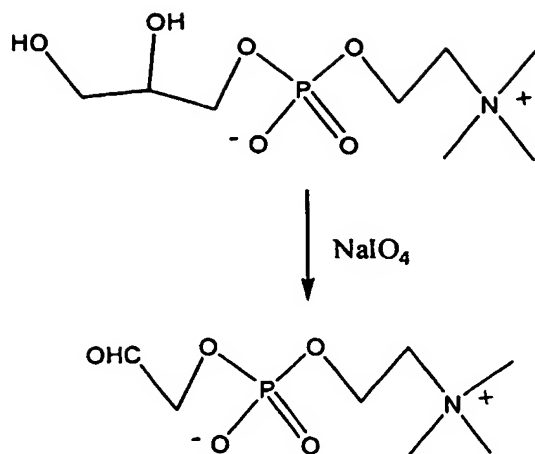
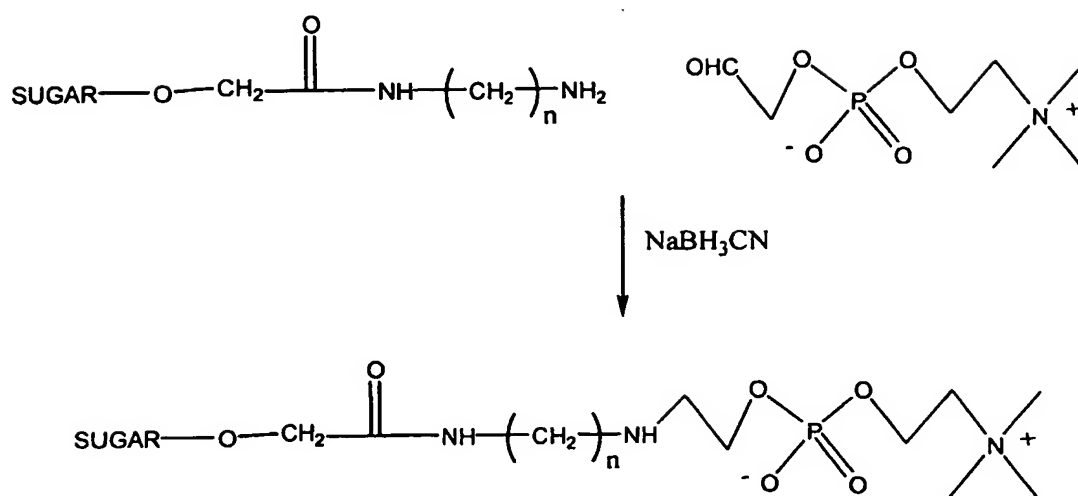
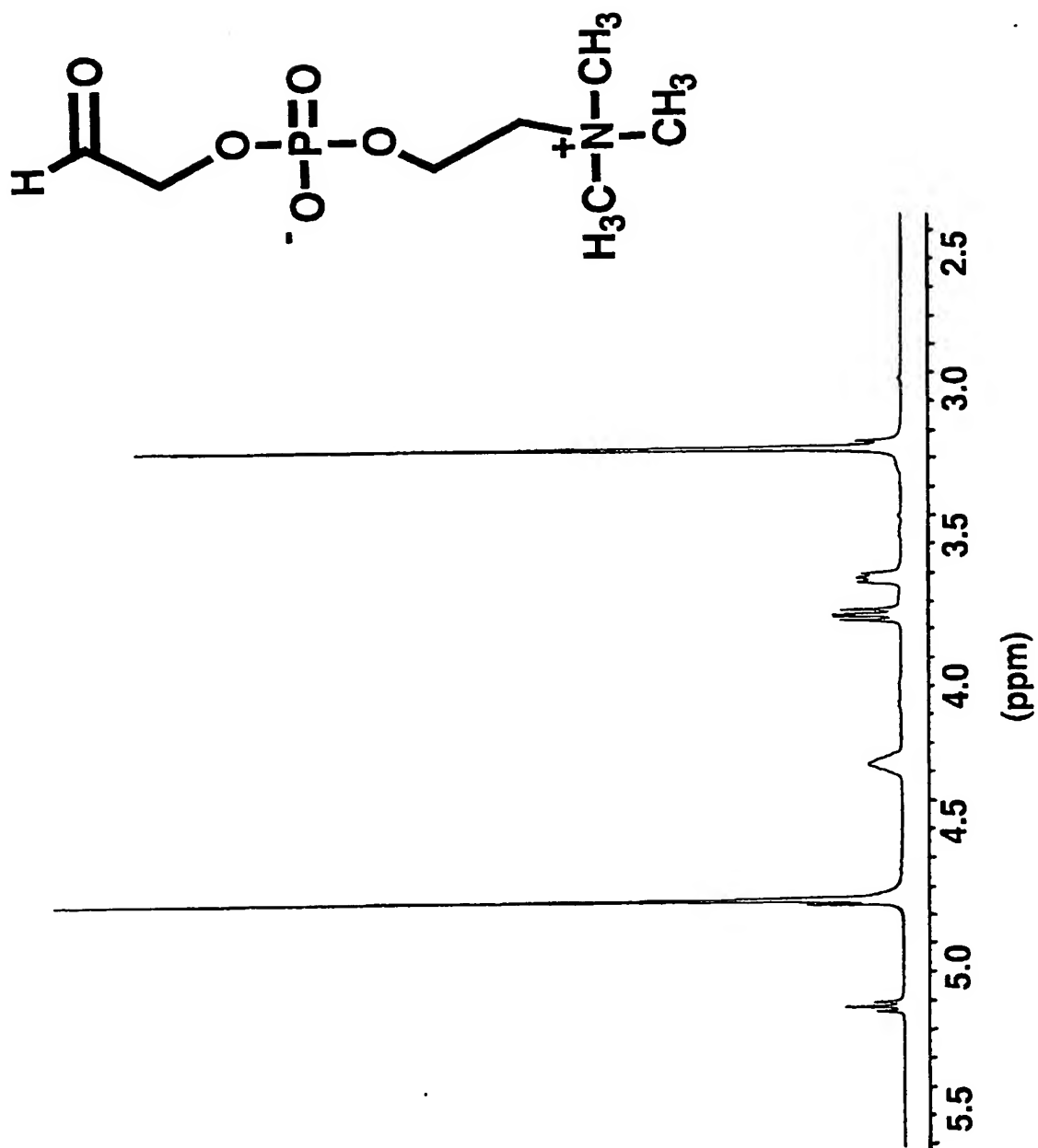


図 2



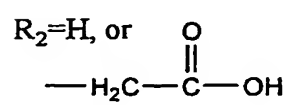
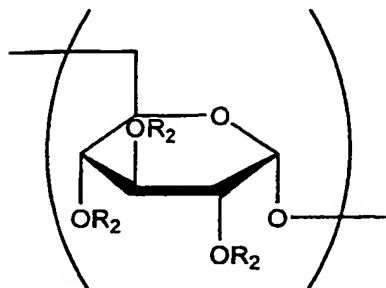
2 / 15

図 3



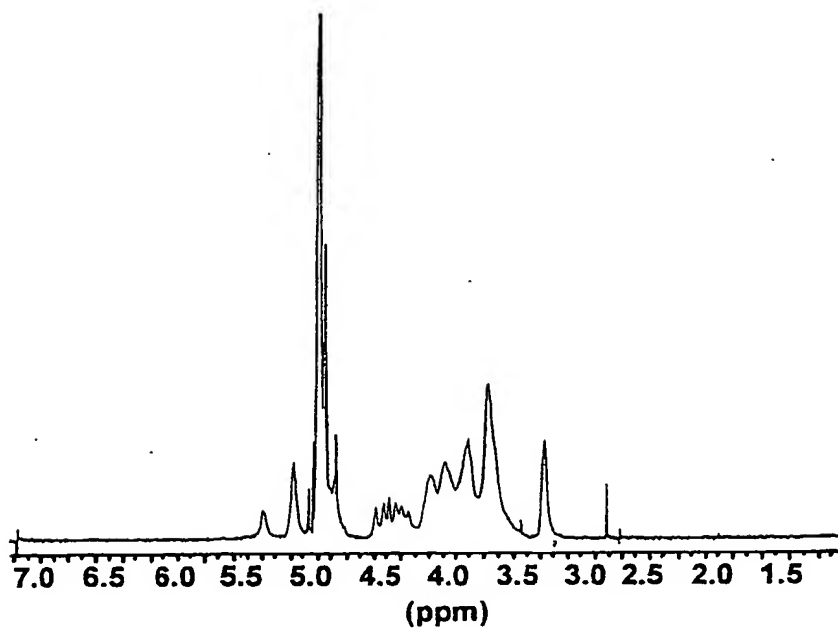
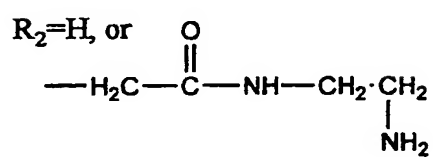
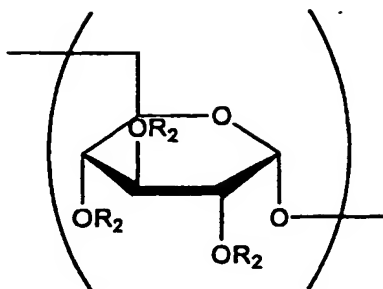
3 / 16

図 4



4 / 16

図 5



5 / 16

図 6

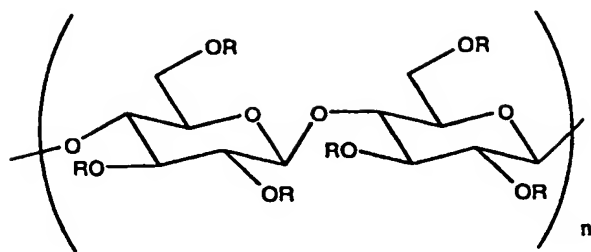

 $R = \text{H or } \text{CH}_2\text{-CONHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ 

図 7

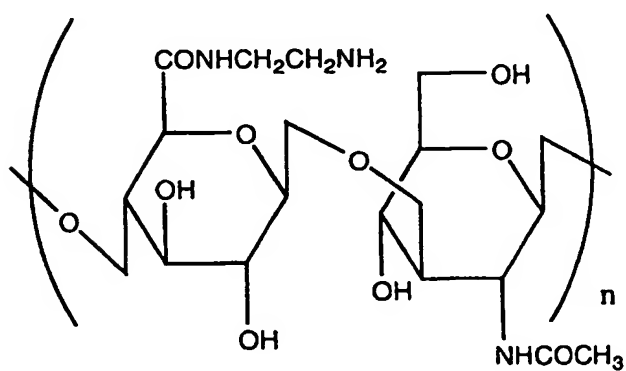
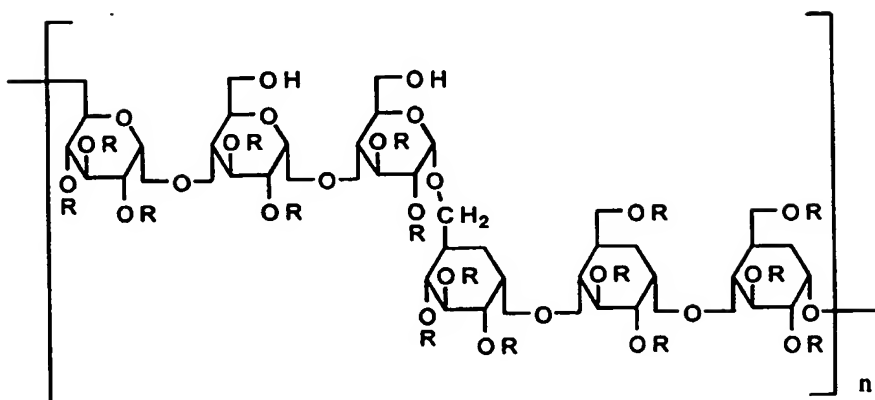


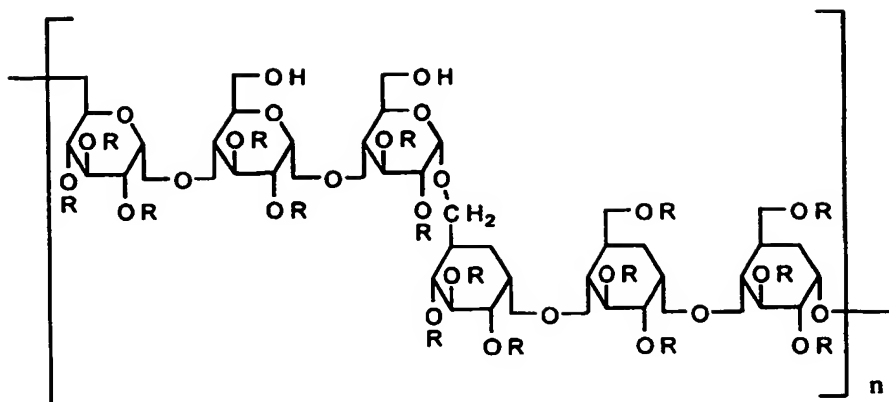
図 8


 $R = \text{H or } \text{CH}_2\text{COOH}$ 

差 替 え 用 紙 (規則26)

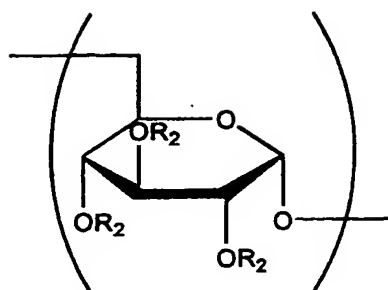
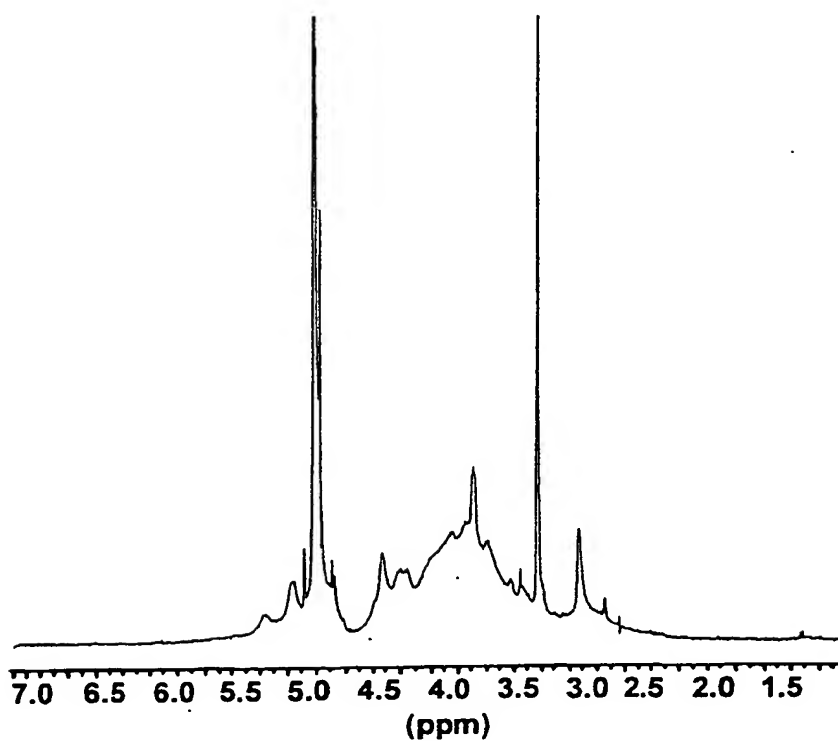
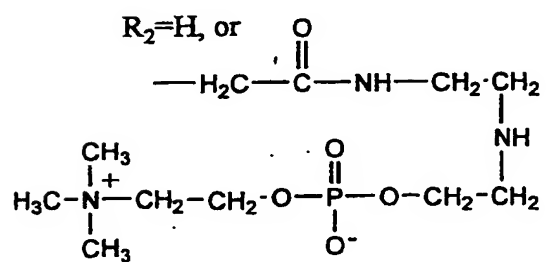
6 / 16

図 9


$$R = \text{H or } \text{CH}_2\text{CONHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$$

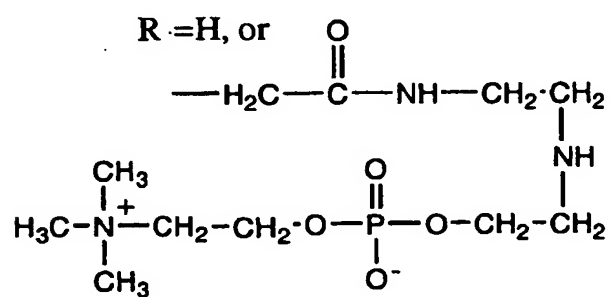
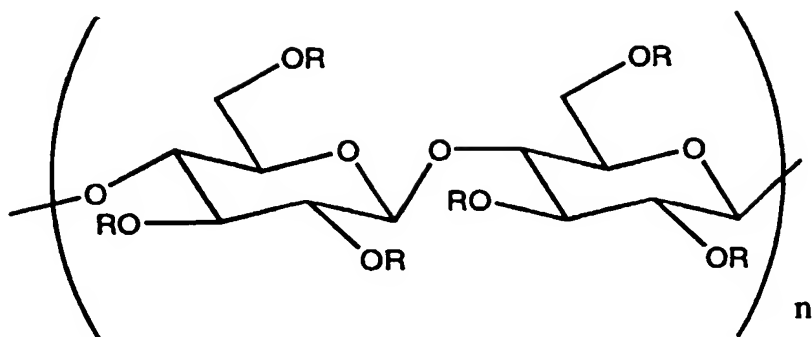
7 / 16

図 10

R<sub>2</sub>=H, or

8 / 16

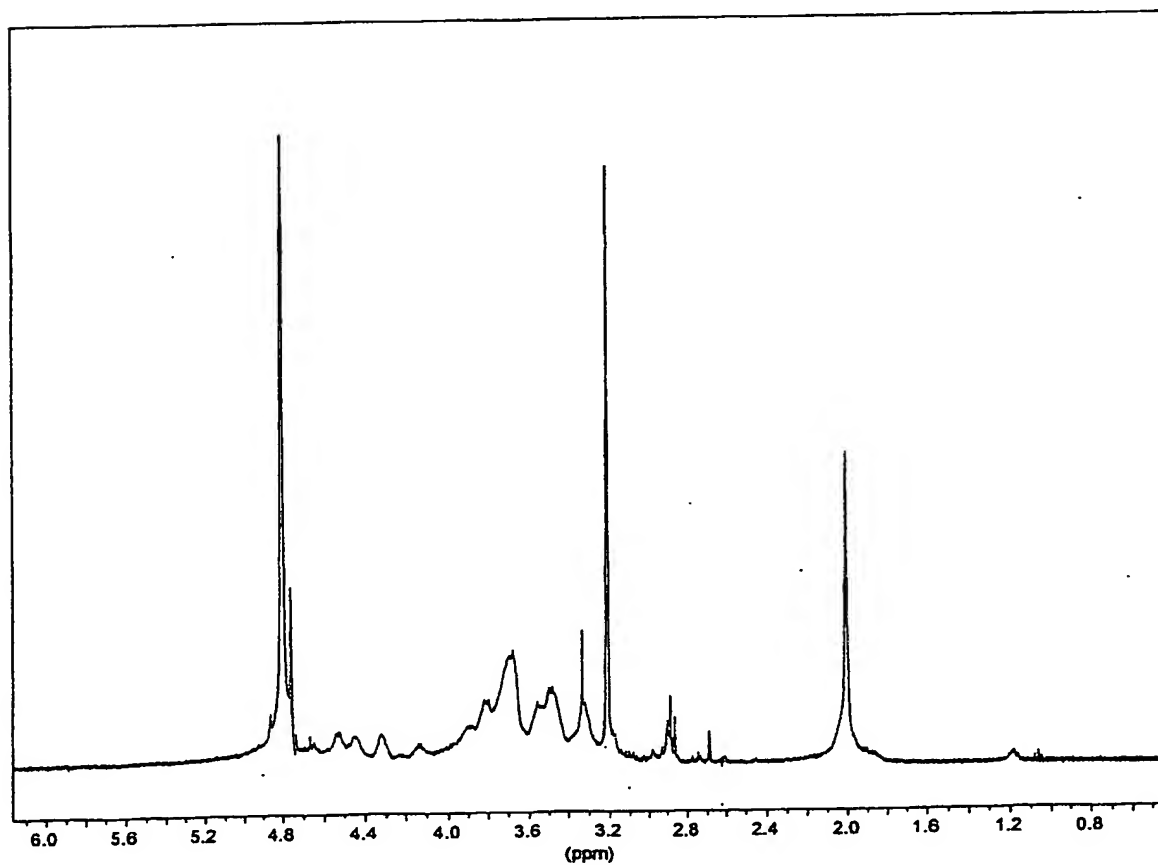
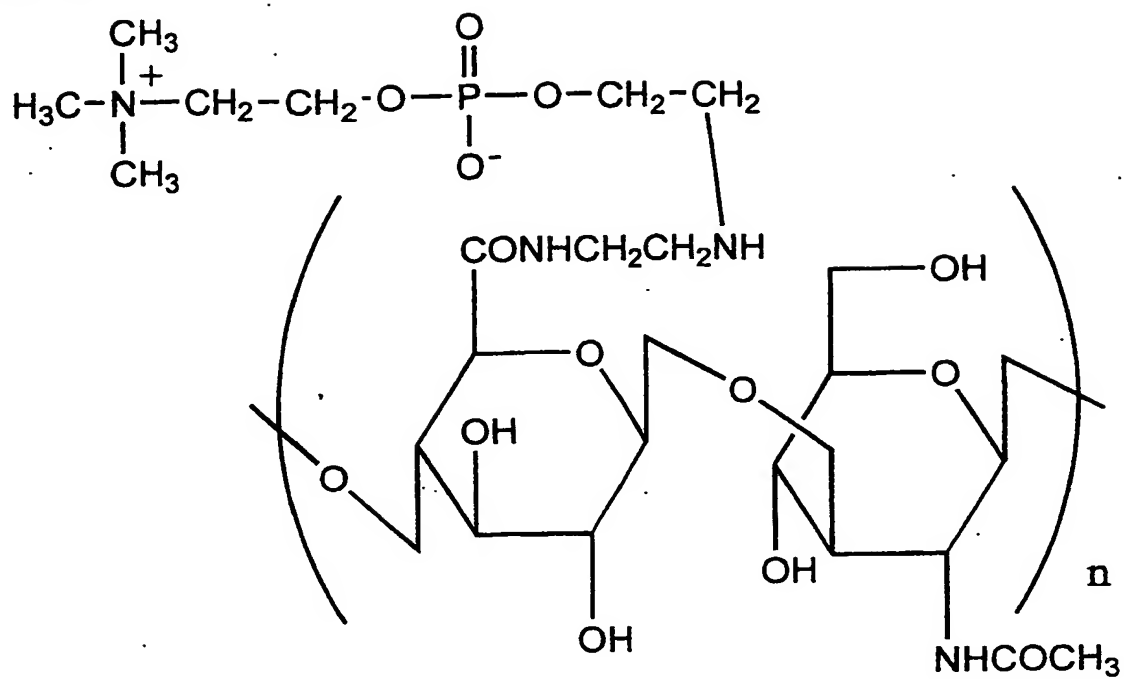
図 1 1





9 / 16

図 12



10/16

図 1 3

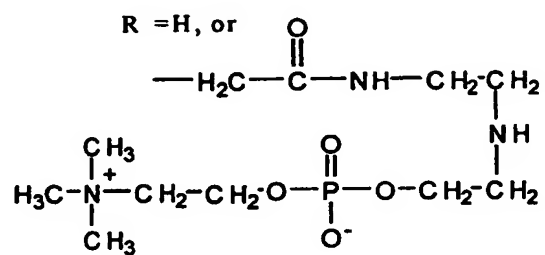
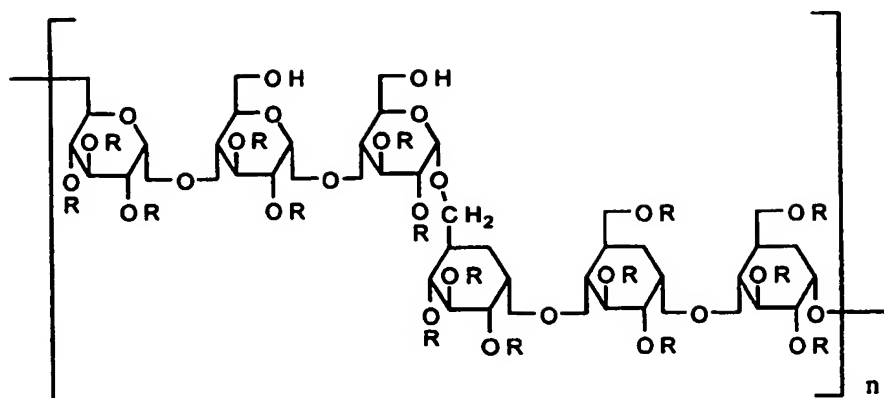
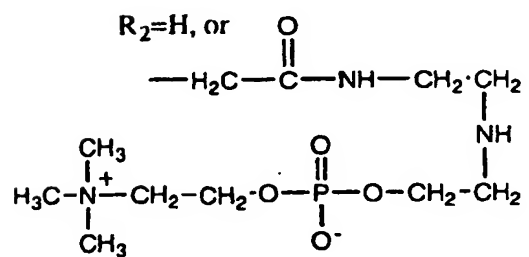
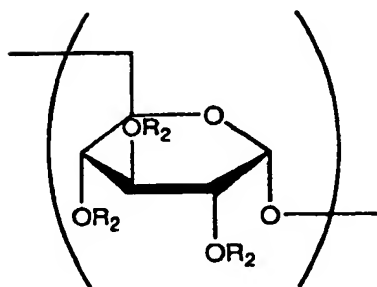


図 1 4



or  $\text{CH}_2\text{CONHCH}_2\text{CH}_2\text{NHCO}-\text{C}_{12}\text{H}_{25}$

差替え用紙 (規則26)

11 / 16

図 1 5

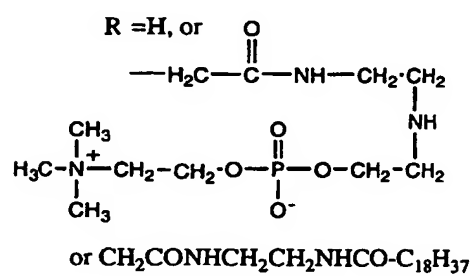
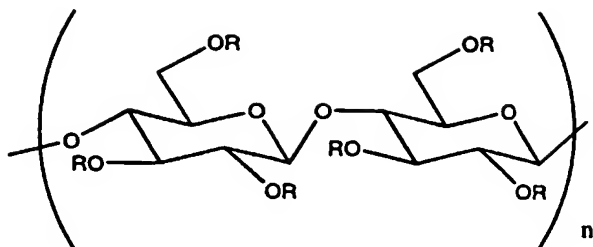
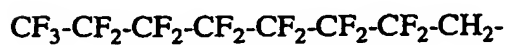
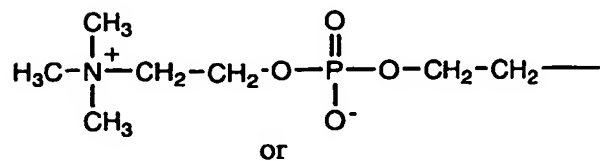
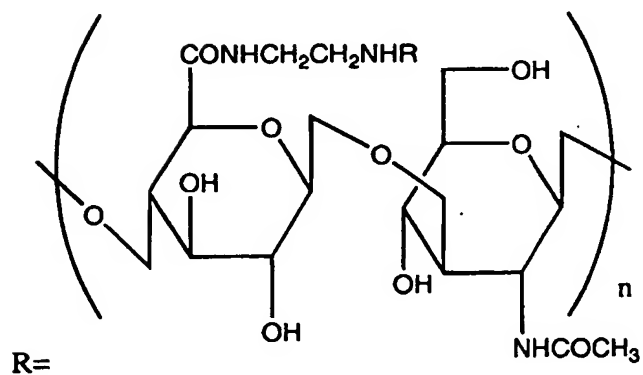


図 1 6



12 / 16

図 17

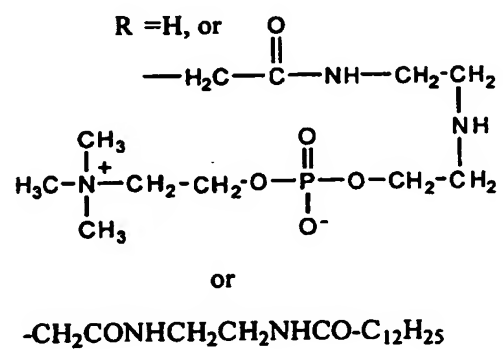
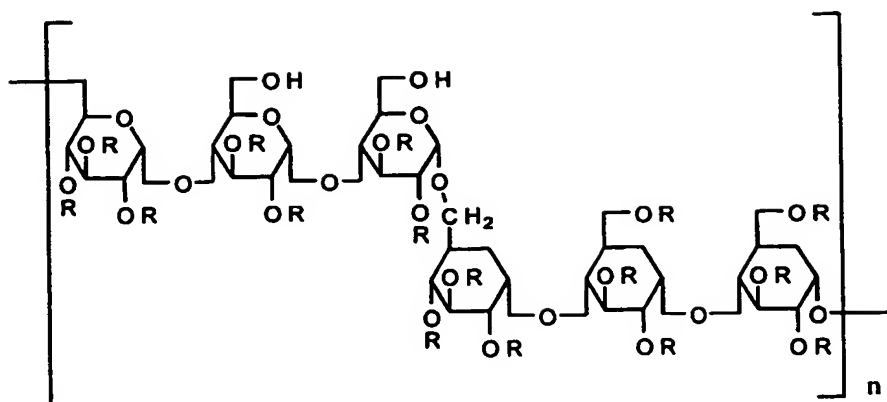
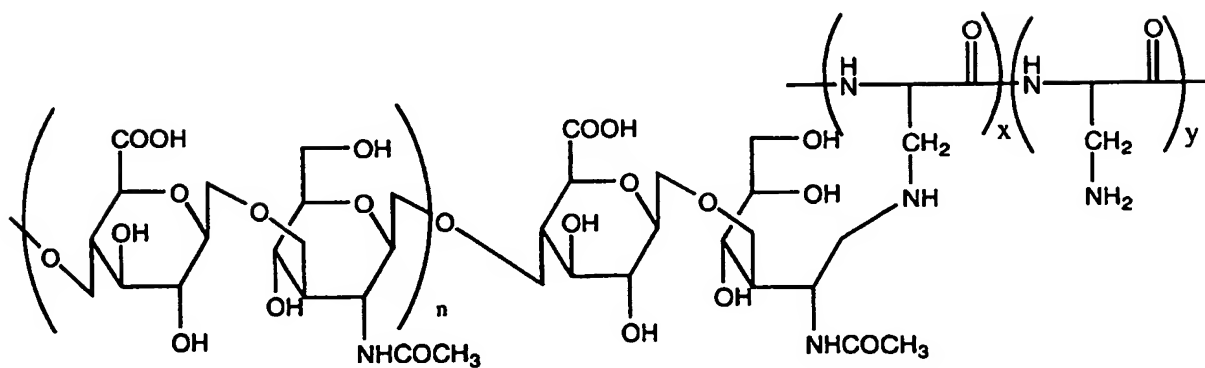


図 18



13/16

図 19

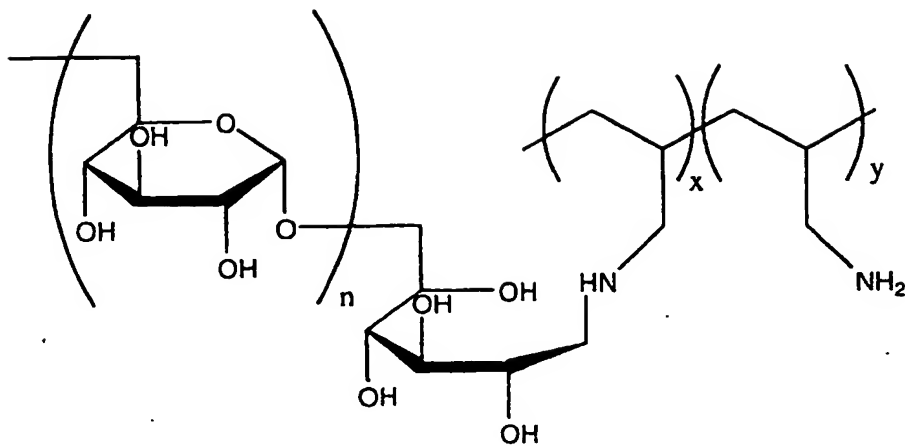
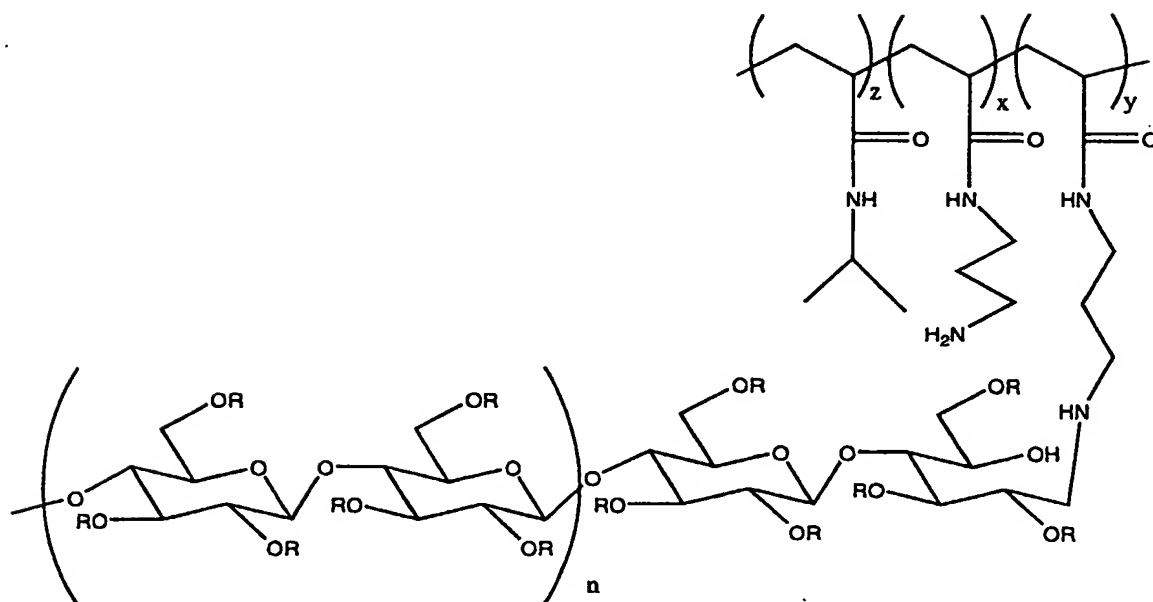


図 20

 $R=H \text{ or } CH_2CH_2OH$

14 / 16

図 2 1

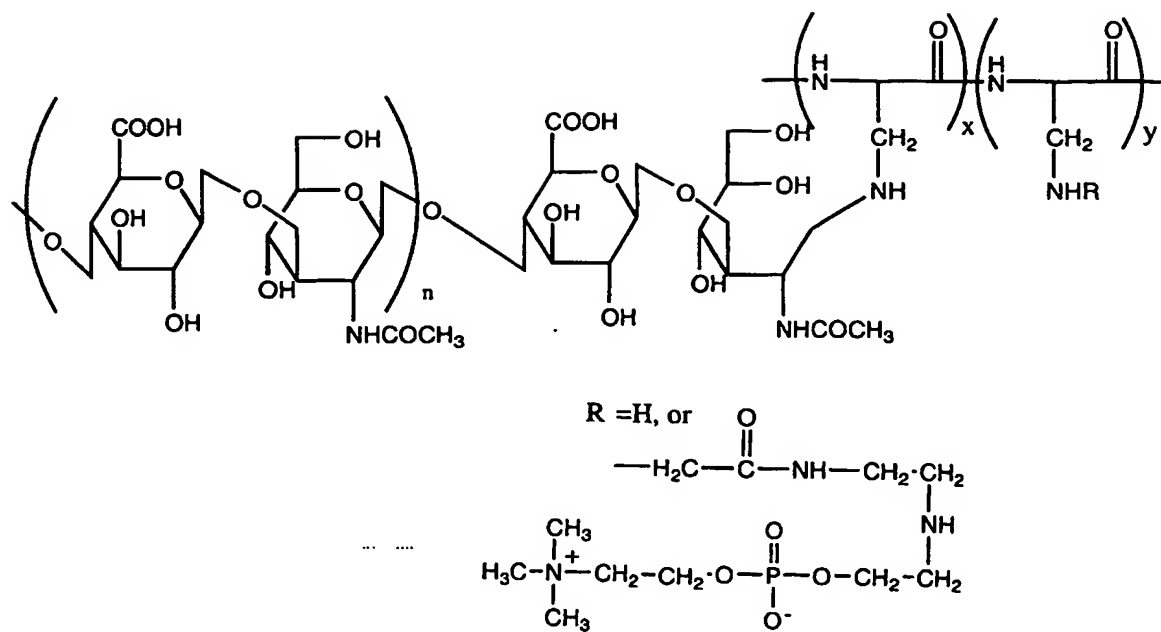
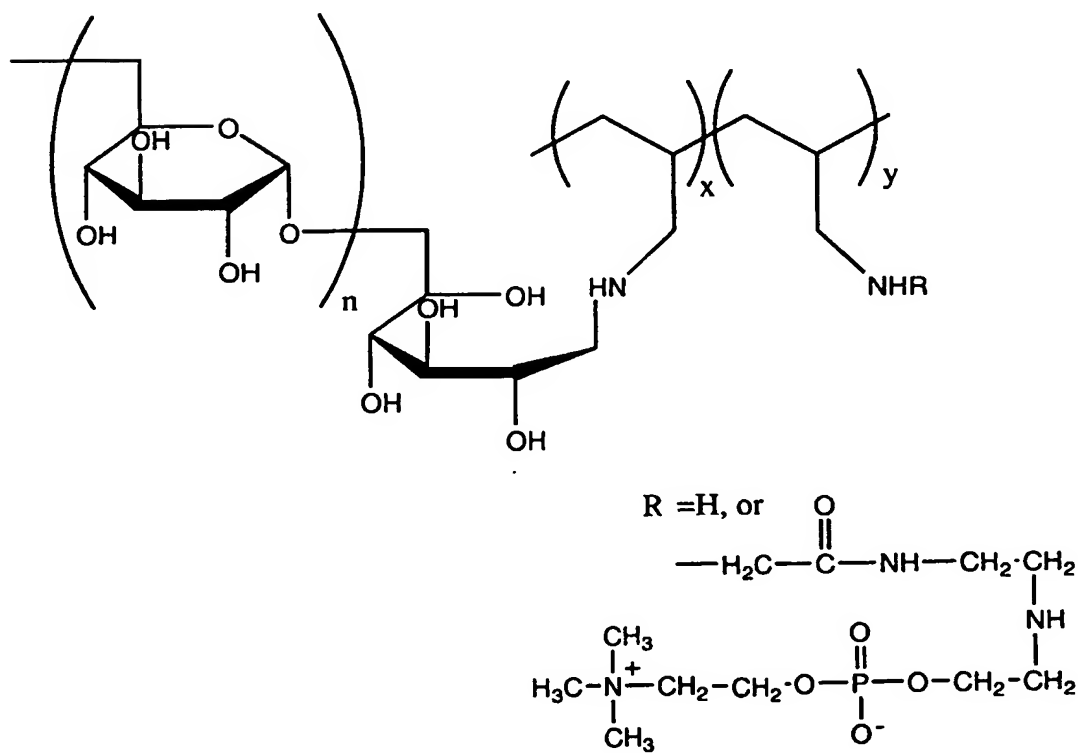


図 2 2









# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/04430

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> C08B15/00, 37/00, 37/02, 37/08 // A61K47/36, 7/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> C08B15/00, 37/00, 37/02, 37/08, A61K47/36, 7/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
CA (STN), REGISTRY (STN), WPIDS (STN)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	JP 10-237102 A (NOF Corp.), 08 September, 1998 (08.09.98), Full text (Family: none)	1 2, 3
X A	JP 10-87702 A (NOF Corp.), 07 April, 1998 (07.04.98), Full text (Family: none)	1 2, 3

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
06 May, 2003 (06.05.03)

Date of mailing of the international search report  
20 May, 2003 (20.05.03)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. C08B15/00, 37/00, 37/02, 37/08 // A61K47/36, 7/00

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. C08B15/00, 37/00, 37/02, 37/08, A61K47/36, 7/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN), REGISTRY (STN), WPIDS (STN)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X A	JP 10-237102 A (日本油脂株式会社) 1998. 09. 08, 文献全体 (ファミリーなし)	1 2, 3
X A	JP 10-87702 A (日本油脂株式会社) 1998. 04. 07, 文献全体 (ファミリーなし)	1 2, 3

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

- の日の後に公表された文献  
「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

06. 05. 03

国際調査報告の発送日

20.05.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

内藤 伸一

4P

8615

電話番号 03-3581-1101 内線 3492